

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **A. Latar Belakang Masalah**

Suatu atom atau gugus atom memiliki satu atau lebih elektron tidak berpasangan sehingga bersifat sangat reaktif dapat disebutkan radikal bebas dinyatakan oleh Fessenden dan Fressenden (1986). Senyawa kimia ini diduga sebagai penyebab kerusakan sel yang mendasari timbulnya berbagai penyakit seperti kanker, jantung koroner, rematik arthritis, serta berperan utama pada proses penuaan dini. Senyawa radikal penyebab penyakit tersebut dapat dicegah oleh adanya senyawa antiradikal. Produk samping proses metabolisme dapat terbentuk dari radikal bebas dalam tubuh, selain itu dapat berasal dari luar tubuh yang terserap melalui pernafasan atau kulit (Bast *et al.*, 1991).

Menurut Windono *et al.*, (2001) senyawa yang menghambat proses oksidasi adalah antioksidan. Senyawa ini dapat menstabilkan radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron dari radikal bebas, sehingga dapat menghambat terjadi reaksi berantai. Menurut Haila (1999) zat yang dapat menangkap atau mencegah reaksi oksidasi dari radikal bebas, memperlambat atau menghambat oksidasi zat yang mudah teroksidasi dalam konsentrasi tinggi maupun konsentrasi rendah adalah antiradikal.

Secara lokal *Zingiber amaricans* (Zingiberaceae) di Jawa Tengah terkenal sebagai "Lempuyang emprit" (Heyne, 1987). Lempuyang emprit adalah salah satu tanaman obat yang dimanfaatkan dalam bidang pengobatan. Rimpang lempuyang emprit merupakan bahan alami yang digunakan sebagai obat tradisional, merupakan komponen utama ramuan jamu Cabepuyang, yang seringkali dikonsumsi oleh masyarakat secara empiris sebagai penambah nafsu makan, obat sakit perut, obat demam, dan penghilang rasa pegal, badan penat, asma, mencegah kehamilan (Syamsuhidayat dan Hutapea, 1991; Arief, 2005).

Zerumbon adalah suatu senyawa sesquiterpen yang memiliki struktur yang unik terdiri dari 11 atom karbon dengan gugus keton, kandungan sesquiterpennya berkhasiat sebagai antioksidan yang berfungsi mencegah kerusakan gen. Minyak

atsiri merupakan suatu kandungan yang terdapat dalam lempuyang emprit, minyak atsiri yang terdiri dari senyawa terpenoid berpotensi sebagai antioksidan. Seperti yang pernah dilaporkan oleh Ruberto dan Barata (1999) mengenai aktivitas antioksidan terhadap komponen minyak atsiri bahwa aktivitas antioksidan dipengaruhi oleh struktur senyawanya.

Golongan senyawa monoterpen hidrokarbon memiliki aktivitas yang tinggi karena dipengaruhi oleh metilen aktif seperti  $\alpha$ -pinene dan  $\beta$ -pinene. Sesquiterpen hidrokarbon seperti transcaryophyllen dan  $\alpha$ -humulene mempunyai aktivitas rendah. Sesquiterpen teroksigenasi seperti linalol justru berpotensi sebagai pro-oksidan yang membentuk radikal baru yang lebih kuat. (Halimah dan Zetra, 2011).

Berdasarkan penelitian Riyanto (2007) dinyatakan bahwa konstituen utama dalam rimpang lempuyang emprit adalah zerumbon, dan diikuti oleh campuran phytosterol terdiri  $\beta$ -sitosterol, kolesterol, campesterol dan stigmasterol. Minyak atsiri, saponin, flavonoid terdapat dalam lempuyang emprit. Senyawa tersebut sering digunakan untuk bahan dasar obat. Menurut Wahyuni dan Bermawie (2010) zerumbon merupakan sesquiterpen yang berfungsi sebagai agen kemopreventif melawan kanker usus besar dan kanker kulit, sebagai anti proliferasi dan menginduksi apoptosis.

Muklas (2013) menemukan kadar zerumbon ekstrak etanol rimpang lempuyang emprit sebesar 31,07% b/b. Penelitian Wicaksono (2013) telah menemukan bahwa daun lempuyang gajah (*Zingiber zerumbet* Sm.) memiliki aktivitas penangkapan radikal yang lemah dengan nilai  $IC_{50}$  yang diperoleh menggunakan alat *Elisa Reader* 255,35 ( $\pm 7,30$ )  $\mu\text{g/mL}$  dan dengan menggunakan spektrofotometri 228,49 ( $\pm 18,97$ )  $\mu\text{g/mL}$ . Aktivitas penangkapan radikal daun lempuyang emprit belum diteliti, oleh karena lempuyang emprit dan lempuyang gajah mempunyai karakteristik yang hamper sama, beberapa kandungan kimia yang sama dan kedua tanaman ini termasuk dalam suku yang sama yaitu Zingiberaceae.

Penelitian ini diinginkan untuk menentukan aktivitas penangkapan radikal pada daun lempuyang emprit (*Zingiber amaricans* Bl.) dengan metode DPPH serta penetapan kadar fenolik totalnya.

### **B. Rumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang, maka pada penelitian ini dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut :

1. Apakah ekstrak etanol daun lempuyang emprit dan fraksi-fraksinya mempunyai aktivitas penangkapan radikal?
2. Berapa kadar fenolik total yang terdapat dari ekstrak etanol daun lempuyang emprit dan fraksi-fraksinya?
3. Adakah hubungan antara aktivitas penangkapan radikal dengan kadar fenolik total dalam ekstrak etanol daun lempuyang emprit dan fraksi-fraksinya?

### **C. Tujuan Penelitian**

1. Mengetahui aktivitas penangkapan radikal dari ekstrak etanol daun lempuyang emprit dan fraksi-fraksinya dengan metode DPPH.
2. Mengetahui kadar fenolik yang terkandung dalam ekstrak etanol daun lempuyang emprit.
3. Mengetahui hubungan antara aktivitas penangkapan radikal dan kadar fenolik totalnya dalam ekstrak etanol daun lempuyang emprit dan fraksi-fraksinya.

### **D. Tinjauan Pustaka**

#### **1. Tanaman lempuyang emprit (*Zingiber amaricans* Bl.)**

- a. Sistematika Tanaman lempuyang emprit berdasar Plantamor (2013) adalah:

Kingdom	: Plantae
Devisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Liliopsida
Bangsa	: Zingiberales
Suku	: Zingiberaceae
Marga	: Zingiber
Jenis	: <i>Zingiber amaricans</i> Bl.

b. Nama umum/dagang

Nama daerah: Lempuyang Jawa, Lempuyang emprit (Jawa Tengah)  
Lempuyang pahit (Sunda), Lempuyang pahit (Jakarta)

c. Morfologi Tumbuhan

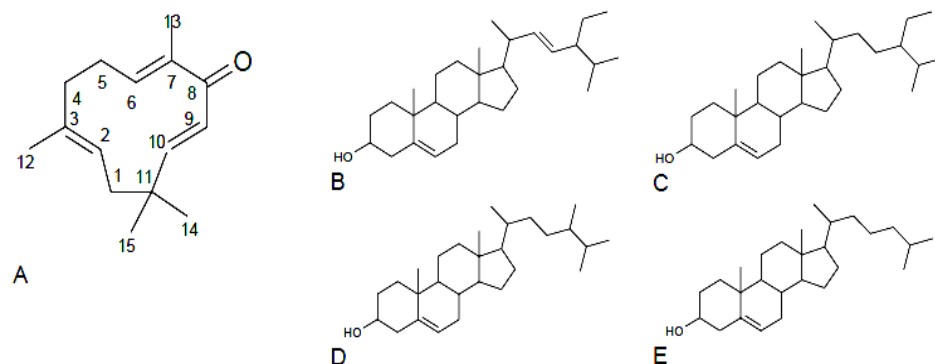
Perawatan: herba rendah sampai tinggi, perennial, batang asli berupa rimpang dibawah tanah, tinggi lebih dari 1 cm. Batang: batang semu berupa kumpulan pelepah daun yang berseling, diatas tanah, beberapa batang berkoloni, hijau, rimpang; menyerap, berdaging gemuk aromatik. Daun: Tunggal, berpelepah, duduk berseling, pelepah; membentuk batang semu, helaian; bentuk lanset sempit, terlebar di tengah atau di atas tengah, panjang 3-7 kali lebar, pangkal runcing atau tumpul, ujung sangat runcing atau meruncing, berambut dipermukaan atas, tulang daun atau pangkal, 14-40 x 3-8,5 cm, tangkai berambut, 4-5 mm (Sudarsono *et al.*, 2002).

d. Khasiat

Rimpang tanaman ini dimanfaatkan untuk menambah nafsu makan, mengobati demam, mengatasi rematik dan sebagai obat sakit perut (Maryani dan Kristiana, 2004). Selain itu, bagian muda dari rimpang tanaman ini juga banyak dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai penyedap beberapa masakan sedangkan bagian tua rimpang pula dimanfaatkan untuk bahan kosmetika bagi ibu-ibu sehabis melahirkan (Sudarsono *et al*, 2002).

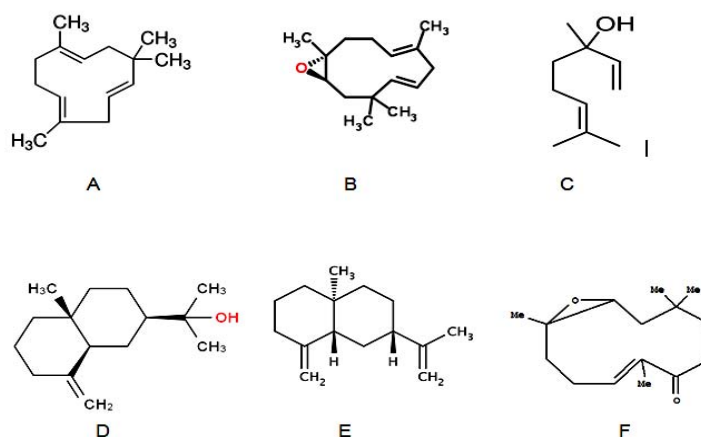
e. Kandungan kimia

Rimpang mengandung minyak atsiri, saponin, flavonoid dan tannin (Syamsuhidayat dan Hutapea, 1991). Menurut hasil identifikasi dan isolasi yang dilakukan oleh Riyanto (2007) menggunakan teknik kromatografi gas, ekstrak heksan rimpang lempuyang emprit mengandung zerumbon sebagai kandungan utama selain campuran dari fitosterol yang terdiri daripada kolesterol (1,12%), kampesterol (12,38%), stigmasterol (30,16%) dan beta sitosterol (56,28%) (Gambar 1).



**Gambar 1. Kandungan kimia lempuyang emprit : (A) 2,6,9- humulatrien-8-one (zerumbon), (B) stigmasterol, (C) beta-sitosterol, (D) kampesterol, (E) kolesterol (Riyanto, 2007)**

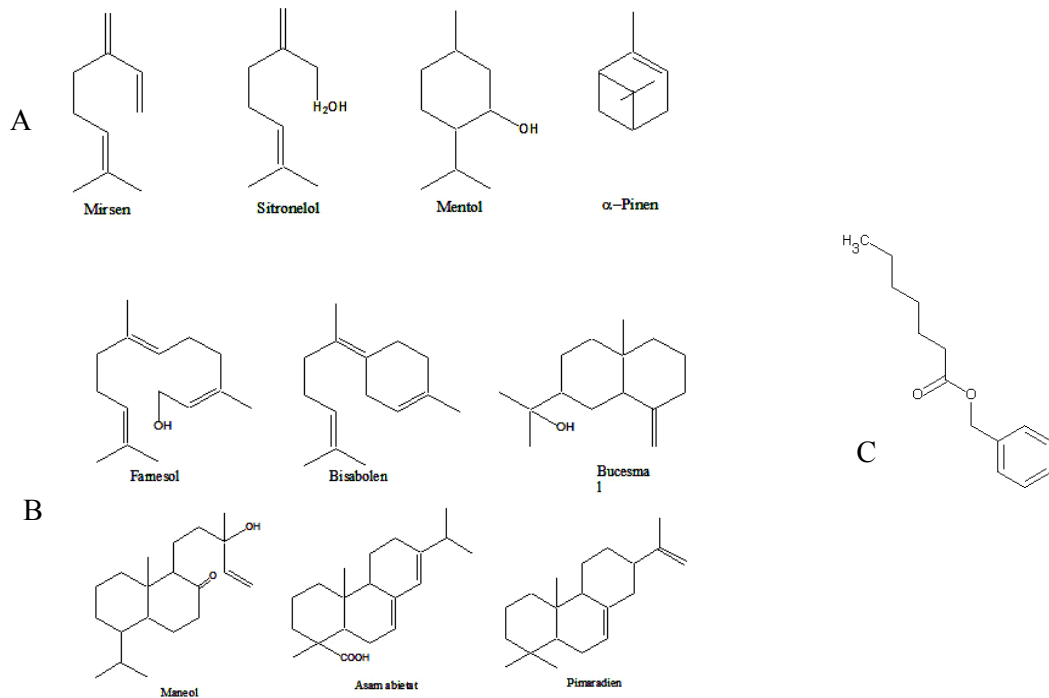
Menurut hasil analisa ekstrak rimpang lempuyang dengan GC-MS yang dilakukan oleh Wahyuni dan Bermawie (2010) menemukan komponen utama dalam lempuyang emprit adalah zerumbon yaitu sebesar 36 – 49%. Komponen utama lainnya diantaranya adalah alpha humulene, humulene oxide, beta-eudesmol, beta-selinen, linalool, 12-oxabicyclo (Gambar 2). Tanaman ini juga mengandung minyak atsiri dengan jumlah sebesar 0.62% terutama adalah sesquiterpen keton (Sumatuti, 1999; Suhirman *et al.*, 1999).



**Gambar 2. Komponen utama dalam rimpang lempuyang emprit : (A) alpha humulene, (B) humulene oxide, (C) linalool, (D) beta-eudesmol, (E) beta-selinen, (F) 12-oxabicyclo (Wahyuni & Bermawie, 2010)**

Sukari *et al.*, (2008) mengidentifikasi kandungan kimia dari rimpang lempuyang emprit dengan GC-MS terhadap ekstrak heksannya menghasilkan

zerumbon yaitu suatu sesquiterpen teroksigenasi dengan komponen utamanya (40,7%). Kandungan kimia lainnya adalah ester aromatik, benzil heptanoat (23,5%), monoterpen (8,2%), monoterpen teroksigenasi (10,6%). Dari data tersebut disimpulkan bahwa kandungan utama lempuyang emprit adalah zerumbon.



**Gambar 3. Kandungan kimia lempuyang emprit : (A) monoterpen, (B) sesquiterpen, (C) benzil heptanoat (Sukari *et al.*, 2008)**

## 2. Antioksidan

Suatu senyawa dikatakan memiliki sifat antioksidan bila senyawa tersebut mampu mendonorkan satu atau lebih elektron kepada senyawa prooksidan, kemudian mengubah senyawa oksidan menjadi senyawa yang lebih stabil. Berdasarkan mekanisme kerjanya, antioksidan dapat dikelompokkan menjadi tiga kelompok, yaitu:

- Antioksidan primer (antioksidan endogen atau antioksidan enzimatis).  
Contohnya enzim peroksidase dismutase, katalase dan glutathion peroksidase.  
Enzim-enzim ini mampu menekan atau menghambat pembentukan radikal

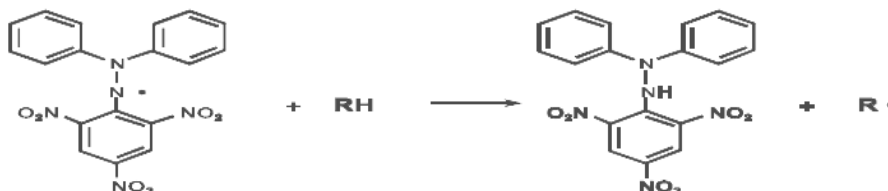
bebas dengan cara memutus reaksi berantai dan mengubahnya menjadi produk stabil. Reaksi ini disebut sebagai *chain-breaking-antioxidant*.

- b. Antioksidan sekunder (antioksidan eksogen atau antioksidan non enzimatis). Contoh antioksidan sekunder ialah vitamin E, vitamin C,  $\beta$ -karoten, isoflaven, asam urat, bilirubin dan albumin. Senyawa-senyawa ini dikenal sebagai penangkap radikal bebas (*scavenger free radical*), kemudian mencegah amplifikasi radikal.
- c. Antioksidan tersier, misalnya enzim DNA-repair, metionin sulfoksida reduktase, yang berperan dalam perbaikan biomolekul yang disebabkan oleh radikal bebas (Winarsi, 2005).

Senyawa kimia yang tergolong dalam kelompok antioksidan dan dapat ditemukan pada tanaman, antara lain berasal dari golongan polifenol, bioflavonoid, vitamin C, vitamin E, beta-karoten, katekin, dan resveratrol.

### 3. Aktivitas Penangkapan Radikal

Menurut Bintang (2010) kemampuan suatu senyawa atau ekstrak untuk menghambat reaksi oksidasi yang dapat dinyatakan dengan persen penghambatan dapat disebutkan sebagai aktivitas penangkapan radikal. Prinsipnya, elektron ganjil pada DPPH memberikan serapan maksimum pada panjang gelombang tertentu dan memiliki warna ungu, warna ungu akan berubah menjadi kekuningan apabila elektron ganjil tersebut berpasangan dengan atom hidrogen dari senyawa antiradikal, sehingga absorbansi yang dihasilkan DPPH akan berkurang. Harga *efficient concentration* 50 ( $EC_{50}$ ) atau *inhibition concentration* ( $IC_{50}$ ), yaitu konsentrasi suatu zat antiradikal yang dapat menyebabkan 50% DPPH kehilangan karakter radikal, digunakan untuk menunjukkan aktivitas penangkapan radikal.



Gambar 4. Reaksi antara DPPH dengan atom H yang berasal dari antioksidan (Prakash *et al.*, 2001)

#### 4. DPPH (*1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl*)

DPPH (*1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl*) adalah suatu metode kolorimetri yang cepat dan efektif untuk memperkirakan aktivitas antiradikal. Uji kimia ini telah digunakan secara luas pada penelitian fitokimia untuk menguji aktivitas penangkapan radikal dari ekstrak atau senyawa murni. DPPH adalah suatu radikal stabil yang mengandung nitrogen organik, berwarna ungu gelap absorbansi yang kuat pada  $\lambda_{\text{maks}}$  517 nm, setelah bereaksi dengan antiradikal warna larutan akan berkurang dan berubah menjadi kuning. Perubahan warna ini dapat diukur secara spektrofotometri (Reynertson, 2007).

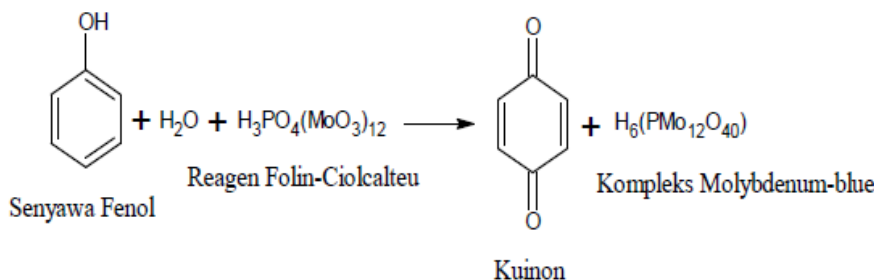
#### 5. Senyawa fenolik

Senyawa fenolik terdiri atas molekul-molekul besar dengan beragam struktur, karakteristik utamanya adalah adanya cincin aromatik yang memiliki gugus hidroksil. Kebanyakan senyawa fenolik termasuk ke dalam kelompok flavonoid. Fenolik merupakan metabolit sekunder yang tersebar dalam tumbuhan, senyawa fenolik dalam tumbuhan dapat berupa fenol sederhana, antraquinon, asam fenolat, kumarin, flavonoid, lignin dan tanin (Harborne 1996). Lempuyang emprit mengandung minyak atsiri, saponin, flavonoid dan tannin (Syamsuhidayat dan Hutapea, 1991).

Salah satu antiradikal alami yaitu asam galat (3, 4, 5-*trihydroxybenzoic acid*). Asam galat termasuk dalam senyawa fenolik dan memiliki aktivitas penangkapan radikal yang kuat. Penentuan kandungan fenolik total dapat dilakukan dengan menggunakan pereaksi *Folin-Ciocalteu* (Lee *et al.*, 2003). Metode ini berdasarkan kekuatan mereduksi dari gugus hidroksil fenolik. Menurut Huang *et al.* (2005) semua senyawa fenolik termasuk fenol sederhana dapat bereaksi dengan reagen *Folin-Ciocalteu*, walaupun bukan penangkapan radikal (antiradikal) efektif.

Menurut Purba *et al.* (2014) penetapan kadar fenolik total dilakukan dengan menggunakan pereaksi *Folin-Ciocalteu* (terdiri dari asam fosfomolibdat dan fosfotungstat) didasarkan pada reaksi oksidasi-reduksi yang mampu mengoksidasi gugus hidroksil ( $\text{OH}^\cdot$ ) dari senyawa golongan fenol. Adapun reaksi sebagai berikut:





**Gambar 5. Reaksi antara senyawa fenol dengan reagen *Folin-Ciocalteu* (Purba *et al.*, 2014)**

### E. Landasan Teori

Rimpang lempuyang emprit (*Zingiber amaricans* Bl.) mempunyai kandungan minyak atsiri 0,6% dengan komponen utama sesquiterpenketon (Wonohadi, 1999). Tanaman ini mengandung zerumbon yaitu suatu senyawa sesquiterpen sebagai komponen utamanya (36%) disamping komponen lain seperti kamfen (16%), humulen (17%), mirsen (22%) dan  $\gamma$ -terpen (10%) (Sudarsono *et al.*, 2002). Penelitian Wahyuni dan Bermawie (2010) menemukan bahwa hasil analisa ekstrak rimpang lempuyang dengan GC-MS diperoleh hasil komponen utama adalah zerumbon yaitu sebesar 36 – 49%.

Zerumbon merupakan konstituen utama yang terdapat dari rimpang lempuyang emprit. Penelitian Safitri (2014) kadar zerumbon dalam ekstrak lempuyang emprit dari Semarang sebesar  $24,035 \pm 0,852\%$  b/b dan kadar zerumbon pada ekstrak lempuyang emprit dari Jogja sebesar  $30,323 \pm 2,4795\%$  b/b. Penelitian Wicaksono (2013) menemukan fraksi semipolar ekstrak daun lempuyang gajah memiliki aktivitas penangkapan radikal, dengan nilai IC<sub>50</sub> (SD) yang diperoleh dengan menggunakan alat *Elisa Reader*  $255,35 (\pm 7,30) \mu\text{g/mL}$  dan dengan alat spektrofotometri  $228,49 (\pm 18,97) \mu\text{g/mL}$ .

### **F. Hipotesis**

Berdasarkan uraian tersebut dapat dirumuskan bahwa :

1. Ekstrak dan fraksi-fraksinya daun lempuyang empurit mempunyai aktivitas penangkapan radikal.
2. Fraksi semipolar memiliki kadar fenolik total lebih tinggi dari pada ekstrak etanol, fraksi polar dan fraksi non polar.
3. Terdapat hubungan antara kadar fenolik dengan aktivitas penangkapan radikalnya.